

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-231435

(43)公開日 平成8年(1996)9月10日

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K	47/34		A 6 1 K 47/34	B
	9/00		9/00	F
	9/107		9/107	C
				H
				F
審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 5 頁) 最終頁に続く				

(21)出願番号 特願平7-38427

(22)出願日 平成7年(1995)2月27日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成6年9月26日  
社団法人高分子学会発行の「高分子学会予稿集43巻8号」に発表

(71)出願人 390014535

新技術事業団

埼玉県川口市本町4丁目1番8号

(72)発明者 由井 伸彦

石川県能美郡辰口町大口ノ1-1大学宿舍

A-11

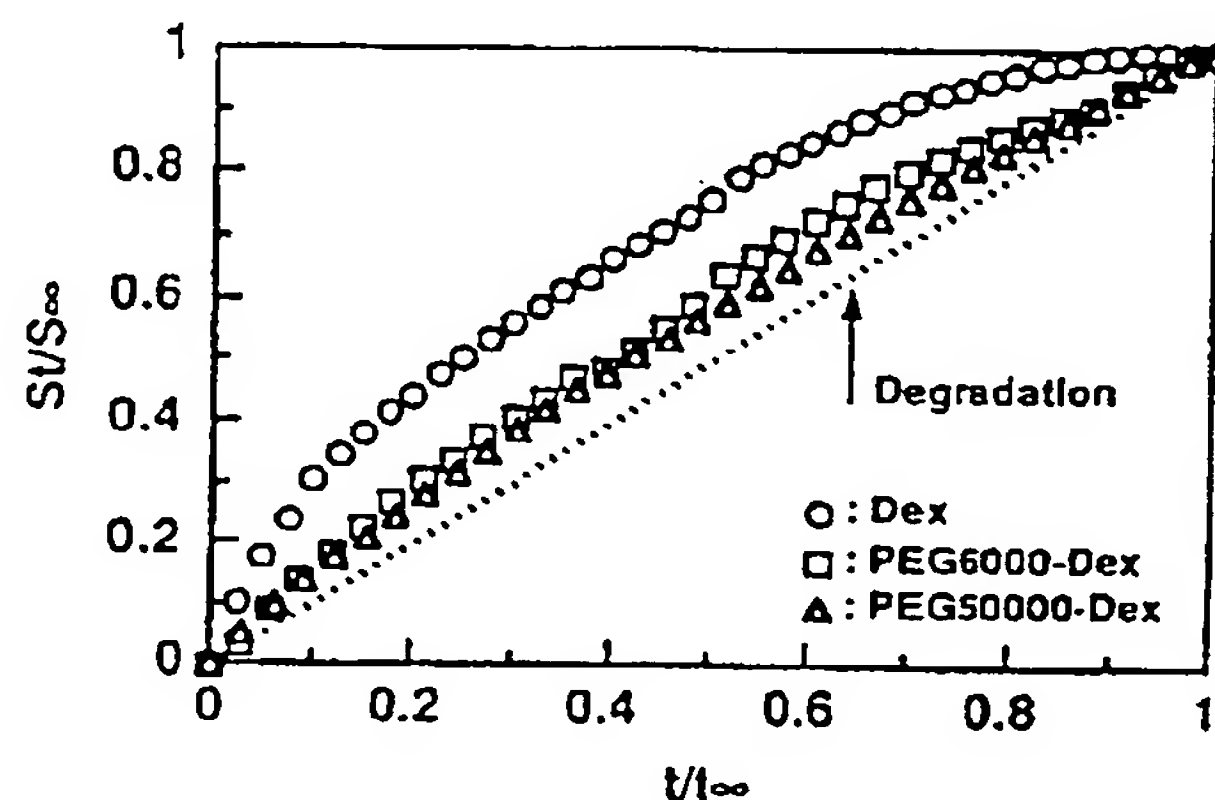
(74)代理人 弁理士 田中 宏

(54)【発明の名称】 生体内分解性高分子ヒドロゲル

(57)【要約】

【目的】薬物を担持した生体内で分解しうる生体内分解性高分子ゲルを提供することを目的とする。

【構成】薬物を選択的に分配された水溶性高分子ドメインと、表面から生体内分解の進行する生体内分解性高分子マトリックスから成り、マトリックスの生体内分解に応じて薬物とその保持ドメインと共に放出される多成分系生体内分解性高分子ヒドロゲルである。



**【特許請求の範囲】**

**【請求項1】** 薬物を選択的に分配、保持した水溶性高分子ドメインと、表面から生体内分解の進行する生体内分解性高分子マトリックスから成り、該マトリックスの生体内分解に応じて薬物がその水溶性高分子ドメインと共に放出される多成分系生体内分解性高分子ヒドロゲル。

**【請求項2】** 高分子マトリックスが薬物を保持する水溶性高分子と架橋、或いは、ブロックないしはグラフト共重合により連結された親水性ゲル（ヒドロゲル）である請求項1記載の多成分系生体内分解性高分子ヒドロゲル。

**【請求項3】** 生理活性ポリペプチド類等の薬物が、水溶性高分子中に二相分配の原理によって選択的に分配されている請求項1記載の多成分系生体内分解性高分子ヒドロゲル。

**【請求項4】** 水溶性高分子が、数平均分子量が200～50000、望ましくは1000～10000であるポリエチレングリコール、ポリエチレングリコールとポリプロピレングリコールとのブロック共重合体の何れかである請求項1記載の多成分系生体内分解性高分子ヒドロゲル。

**【請求項5】** 生体内分解性高分子が、デキストラン、ヒアルロン酸、キチン、キトサン、アルギン酸、コンドロイチン硫酸、でんぷん、プルラン等の多糖或いは、これら多糖の誘導体、或いはアルブミン、コラーゲン、ゼラチン等の蛋白質である請求項1記載の多成分系生体内分解性高分子ヒドロゲル。

**【請求項6】** 生体内分解性マトリックスの分解によってのみ含有している水溶性高分子の溶出が期待される請求項1記載の多成分系生体内分解性高分子ヒドロゲル。

**【発明の詳細な説明】****【0001】**

**【産業上の利用分野】** 本願発明は薬物を担持し、生体内で分解しうる生体内分解性高分子ヒドロゲルに関し、特に、疾患時など生体が必要とする時のみに生体内で分解し薬物を放出できるインテリジェント製剤に利用できる刺激応答性高分子ヒドロゲルに関する。

**【0002】**

**【従来の技術】** 従来より生体内分解性高分子材料に薬物を溶解又は分散させて担持させ、これを静注、経口、皮下埋植等の手段によって投与し、生体内で高分子材料を分解させ、この分解にともなって薬物を放出させて目的とする細胞、組織、臓器、器官に供給することは所謂医薬徐放剤として広く知られている。

**【0003】** しかし、これまでの薬物担体としての生体内分解性高分子材料の多くは、疎水性高分子材料に限られていた。これは、材料自身の分解によって、材料中に溶解又は分散している薬物が放出されるように設計されているからである。ここで分解律速な薬物放出性を獲得

するには、材料中の薬物拡散を制御して非分解時の薬物漏出を回避すると共に、材料の生体内分解性を制御して、材料の加水分解を表面に限定することが不可欠であった。通常、材料の生体内分解は酵素的或いは非酵素的加水分解によって行われるので、材料への水の侵入速度と加水分解速度とを制御する立場から、結果として材料自身を疎水性にして水の侵入速度を制限すると共に、生体内分解基の加水分解を高くして分解速度を上げざるをえなかった。このことは、製剤としての保存安定性の低下や材料の生体適合性の低下をもたらし、製品化や適用部位に制限をもたらすこととなっていた。

**【0004】** 近年では、生体の恒常性を考慮して、疾患時など生体が必要とする時のみに薬物を放出するインテリジェント製剤が、刺激応答性高分子を用いて可能になってきている。刺激応答性高分子としては、主に刺激に対する高分子材料の膨潤・収縮挙動によって薬物の拡散を制御することが検討されてきたが、材料の生体内分解挙動によって薬物放出を制御することは困難であった。最近、活性酸素や一部の酵素反応を利用して材料の刺激応答型分解性が可能になってきている。例えば、炎症時に発生するヒドロキシルラジカルによって特異的に分解するヒアルロン酸架橋ゲルを用い、この中に薬物保持ドメインとして脂質微粒子が分散した不均質構造ゲルによって、炎症時の生体内分解に応答した薬物放出を可能にした事例が知られている（N.Yui, 外3名 J.Controlled Release, 25巻113頁（1993））。このような場合、刺激応答性を生体内分解性高分子材料に賦与するため、生体内分解の刺激に対する応答性確保の面から、親水性高分子材料（高分子ヒドロゲル）であることが望ましい。しかしながら、高分子ヒドロゲルでは含水率が高いため、一般にゲル内部での薬物拡散が著しく、ヒドロゲルの分解以前に拡散によって薬物が放出してしまう問題を有している。こうした背景のもとに、インテリジェント性の高い埋植可能な薬物担体としての発展性のある材料として、生体内分解に律速な薬物放出性を示す高分子ヒドロゲルの基本的な設計が強く期待されている。

**【0005】**

**【発明が解決しようとする課題】** 本発明者は上記の要望に応えるべく生体内分解に律速な薬物放出性を示す高分子ヒドロゲルについて種々検討した結果、本発明を完成したもので、本発明の目的は生体内分解そのものによって薬物放出速度をコントロールできる高分子ヒドロゲルを提供する。

**【0006】**

**【課題を解決するための手段】** 本発明の要旨は、薬物を選択的に分配、保持した水溶性高分子ドメインと、表面から生体内分解の進行する生体内分解性高分子マトリックスから成り、該マトリックスの生体内分解に応じて薬物がその水溶性高分子ドメインと共に放出される多成分系生体内分解性高分子ヒドロゲルである。即ち、本発明

の多成分系生体内分解性高分子ヒドロゲルは、水溶性高分子ドメインと生体内分解性高分子マトリックスとからなる多成分系生体内分解性高分子ヒドロゲルであって、水溶性高分子ドメインには薬物が選択的に分配、保持されており、生体内分解性高分子マトリックスはその表面から生体内で分解して薬物を水溶性高分子ドメインと共に放出するような高分子ヒドロゲルである。

【0007】更に本発明について詳細に説明する。本発明における水溶性高分子ドメインを構成する高分子化合物としてはポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、またはこれらのブロック共重合体等のポリエーテルポリオールであって、その平均分子量は200～50000、望ましくは1000～10000である。他方、生体内分解性高分子マトリックスを構成する高分子化合物としては、デキストラン、ヒアルロン酸、キチン、キトサン、アルギン酸、コンドロイチン硫酸、でんぷん、プルラン等の多糖或いはこれら多糖の誘導体、又はアルブミン、コラーゲン、ゼラチン等の蛋白質であり、水溶性高分子ドメインを構成する高分子と生体内分解性高分子マトリックスを構成する高分子化合物とが架橋、或いは、ブロックないしはグラフト共重合により連結されていてよい。架橋の場合、架橋剤としてはグリシジルメタクリレートその他、多官能性グリシジルエーテル、エピクロロヒドリン等がある。グラフト共重合体に関しては、例えばデキストランにモノクロロ酢酸を反応させてカルボキシ基を導入してカルボキシメチルデキストランとし、これに一方の末端がアミノ基のポリエチレングリコールをカルボジイミドなどの適当な縮合剤を用いて反応させることにより、ポリエチレングリコールがグラフトされたデキストランとすることができる。

【0008】この高分子ヒドロゲルに担持、保持される薬物は生理活性ペプチド医薬と言われるものは何れでもよく特に限定されることなく、アミノ酸類、生理活性ペプチド類、核酸、酵母、菌体など広範囲なものが対象である。具体的に例示すると、インスリン、インターフェロン、活性酸素消去剤であるスーパーオキシドジスムターゼ、黄体形成ホルモン放出ホルモンである酢酸リュープロライド、各種成長因子、モノクローナル抗体等が挙げられる。本発明においては、上述したように、水溶性高分子ドメインを構成する高分子と生体内分解性高分子マトリックスを構成する高分子化合物との二成分の高分子化合物からなる高分子ヒドロゲルである。この高分子ヒドロゲル中に、水性高分子二層分配の原理を利用して薬物を分配、保持させたものである。従って、従来の薬物が材料中に均一に溶解あるいは分散している薬物徐放材料とは異なり、薬物を水性高分子二層分配の原理によって二成分の一方に選択的に保持させていることが特徴である。

【0009】即ち、本発明にかかる多成分系生体内分解性高分子ヒドロゲルでは、構成する二つの高分子の一方

を薬物保持ドメインとして、他方を生体内分解性マトリックスとして機能させ、生体内分解性マトリックスの表面から進行する生体内分解に応じて薬物がその保持ドメインと共に放出される設計となっている。これにより、薬物放出性をヒドロゲル中の薬物拡散によってではなく、ヒドロゲル分解によって制御している。このことは、ヒドロゲル自身が極めて高い含水率を有し、ゲル中の薬物拡散性が高いにもかかわらず、ヒドロゲル分解に律速な薬物放出性を可能にしている。更に将来的には、生体内分解性マトリックス中の薬物保持ドメインの大きさやその分布状態を制御することにより、ヒドロゲルの生体内分解に応じた非線形（パルス型）な薬物放出特性も期待される。

【0010】この多成分系生体内分解性高分子ヒドロゲルは、静注や経口その他、皮下埋植や関節内注入等のインプラント剤として広く用いることが出来る。従って本発明によって、これまで困難であった静注、経口、皮下埋植などの投与経路での種々の生理活性ペプチド製剤の設計が可能になるものと期待される。本発明は、静注・経口・皮下あるいは組織内埋植等あらゆる経路から投与する生理活性ペプチド製剤全般への適用が可能となる。

【0011】

【作用】本発明にかかる多成分系生体内分解性高分子ヒドロゲルでは、水溶性高分子ドメインに選択的に分配された薬物が、生体内分解性マトリックスが分解されるまで安定に保持され、更に、生体内分解性マトリックスが表面から進行する生体内分解によって、薬物の含有した水溶性高分子が溶出するもので、薬物の放出はゲル中の薬物拡散によらず、ゲルの生体内分解によってのみ規定されている。

【0012】

【実施例及び比較例】次に実施例を以って、更に具体的に本発明を説明する。

実施例

PEG-Dex系でのインスリン分配：0.1Mリン酸緩衝液（PBS, pH7.4）を用い、平均分子量Mnが1000, 6000, 50000のポリエチレングリコール（PEG）および分子量40000のデキストラン（Dex）溶液（40wt%）、FITC標識インスリン溶液（1mg/ml）を調製し、重量比4:4:1で混合し、30分間後に上下各相のインスリン濃度をFITC蛍光測定によって決定した。メタクリル化デキストラン（MA-Dex）の調製：10wt%デキストラン-0.01M炭酸ナトリウム水溶液（pH11）に所定量のグリシジルメタクリレートを滴下し、5日間攪拌後エタノール中に沈殿させ、メタクリル化デキストラン（MA-Dex）を得た。DexおよびPEG-Dex架橋ヒドロゲルの調製：40wt%PEG（Mn=6000, 50000）溶液：1mg/ml FITC標識インスリン溶液=90:5:5（重量比）で混合攪拌し、



レドックス反応 (APS+TMEDA) により PEG-Dex 架橋ヒドロゲルを調製した。Dex および PEG-Dex 架橋ヒドロゲルのデキストラナーゼ分解とインスリン放出の測定: PEG-Dex 架橋ヒドロゲルの分解は 37℃ のデキストラナーゼ溶液 (2 unit/ml) に平板状 (25×20×2mm) 架橋ゲルを浸漬して行なった。分解量はゲルの一定時間毎の重量変化から、ゲル分解時の FITC 標識インスリンの放出は、フローセルを用いて FITC 蛍光測定を連続的に行うことによりそれぞれ定量した。その結果は次の通りである。

【0013】PEG-Dex 系でのインスリン分配: 一般に水性二相系への第三成分の分配は、用いる高分子の分子量や濃度、緩衝液の組成や pH などに依存することが知られている。溶媒として 0.1MPBS (pH 7.4) を用いると、いずれの PEG 分子量においてもインスリンが上相 (PEG 相) に優先的に分配された (図 1

Dex 40,  
PEG 6-Dex 40,  
PEG 50-Dex 40,

また、いずれのゲル分解速度も Dex 含率に依存していた。

【0015】インスリン放出は、ゲル分解の終了とともに一定値を示していた。そこで分解終了時間を  $t_{\infty}$ 、インスリン放出全量を  $S_{\infty}$  として、各ゲルからのインスリン放出をまとめたところ、図 3 及び図 4 に示した結果が得られた。Dex の場合、インスリン放出は時間  $t$  の平方根にほぼ比例する曲線を示し (図 3 参照)、他方、PEG 6-Dex 40、PEG 50-Dex 40 からのインスリン放出は、 $t$  にほぼ比例していた。デキストラナーゼ非存在下での各ゲルからのインスリン放出性を検討したところ (図 4)、上述のゲル分解終了時間内に Dex 40 では  $S_{\infty}$  の約 60%、PEG-Dex では 1.5% 以下のインスリン放出が認められた。したがって、Dex 40 からのインスリン放出は分解だけでなく拡散が強く影響しているのに対し、PEG-Dex では PEG ドメインに保持されていたインスリンが Dex マトリックスの表面分解によって放出されたと考えられる。以上より、水性二相分配を示す PEG-多糖の組み合わせより構成される不均質構造化ヒドロゲルは、分解に規定された薬物放出を実現でき、今後種々の多糖ヒドロゲルにこ

参照)。これは PBS 中のリン酸イオンが下相 (Dex) 相へ偏り、生理的 pH において負電荷をもつインスリンがリン酸イオンとの静電的反発によって上相 (PEG 相) へ分配されたためと考えられる。この時、PEG 分子量の増大にしたがって PEG 相へのインスリン濃度が低下したが、下相 (Dex 相) のインスリン濃度はほとんど変化しなかった。これは PEG 分子量増大に伴い両相の界面付近へのインスリン分配が起きていることを示していると考えられる。

【0014】PEG-Dex 架橋ヒドロゲルのデキストラナーゼ分解とインスリン放出: Dex 架橋ゲル (Dex 40) および PEG-Dex 架橋ゲル (PEG 6-Dex 40、PEG 50-Dex 40) の分解は、時間に比例しており (図 2)、いずれの架橋ゲルも表面から分解していることが示された。この時、ゲル分解速度は次の通りである。

4.  $3.9 \times 10^{-6} \text{ cm/sec}$

4.  $7.0 \times 10^{-6} \text{ cm/sec}$

4.  $6.6 \times 10^{-6} \text{ cm/sec}$

の特性を転用することが期待される。

【0016】

【発明の効果】本多成分系生体内分解性高分子ゲルでは、水性高分子二相分配を示す水溶性高分子、生体内分解性高分子、これらによって分配可能なアミノ酸類、生理活性ペプチド類、核酸、酵母、菌体など広範囲な対象としての薬物の 3 つの組み合わせにより、ゲル非分解時の拡散による薬物漏出を回避し、高い含水率と生体内分解に応じた薬物放出性とを兼備した機能を発現することが出来る。このことは、薬物の選択や生体内分解速度の制御を容易にするものであり、種々の薬物について分解に応じた放出性を実現することが出来る利点を有する。

【図面の簡単な説明】

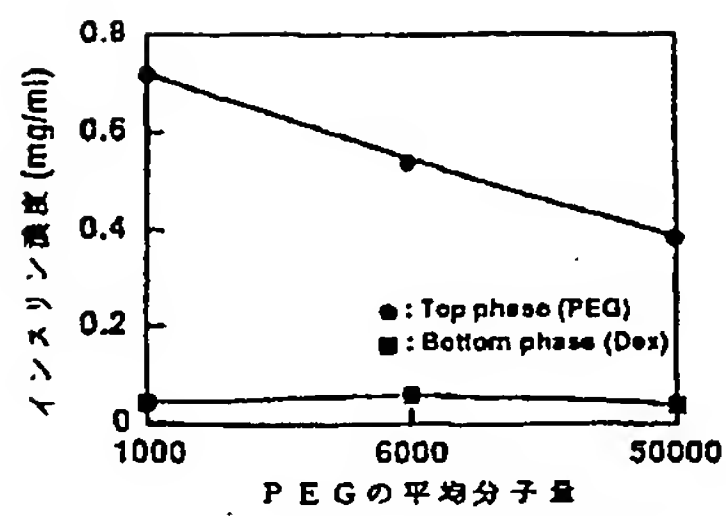
【図 1】PEG-デキストランの二相システム中でのインスリンの分配図

【図 2】PEG-デキスタンヒドロゲルのデキストラナーゼによる分解速度

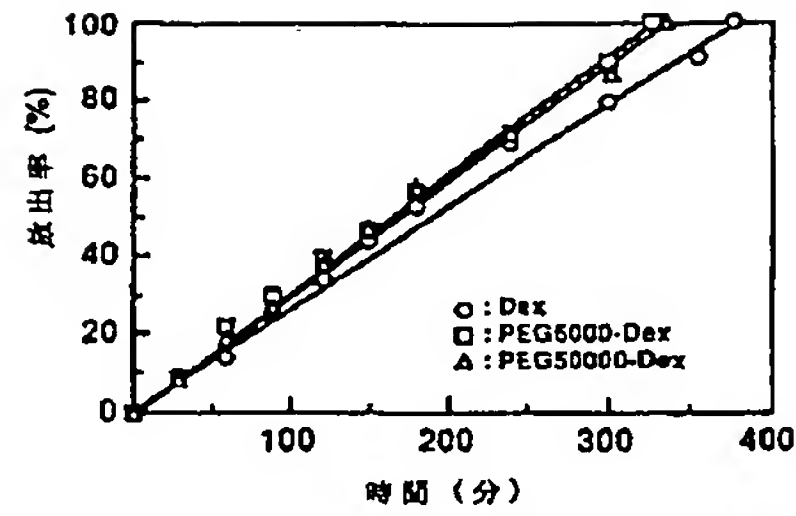
【図 3】PEG-デキスタンヒドロゲルからのインスリン放出状態図

【図 4】37℃、0.1PBS 中で貯蔵中における PEG-デキスタンヒドロゲルからのインスリンの漏出量

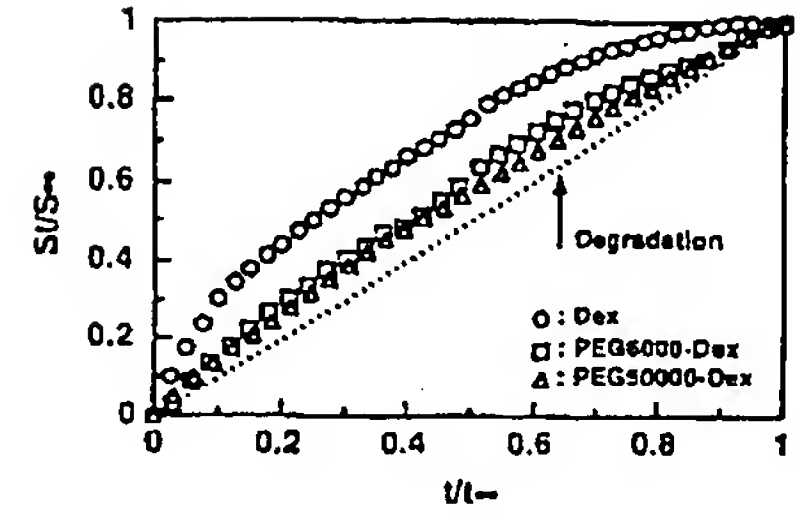
【図 1】



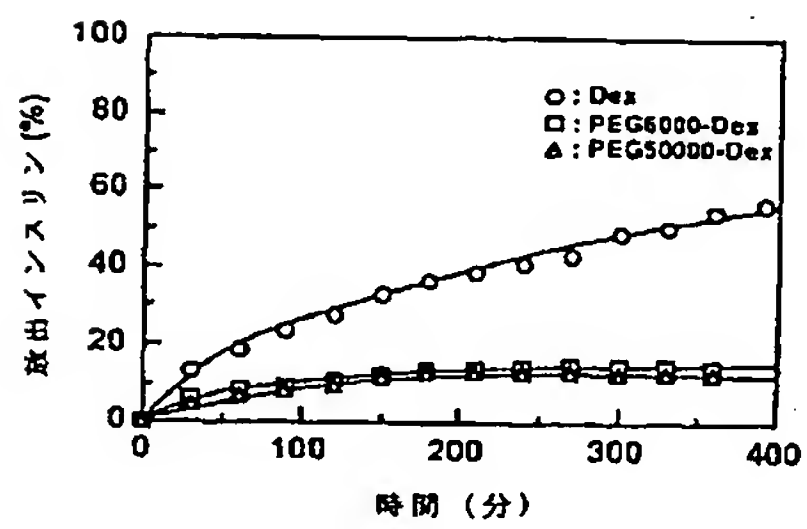
【図 2】



【図 3】



【図 4】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. 6

A 6 1 K 38/00

47/36

47/42

識別記号

庁内整理番号

F I

A 6 1 K 47/36

47/42

37/02

技術表示箇所

C

C